



Eksperiment

Gentest med gelelektroforese

Baseret på side 27-29 og 45-46

Anders er 27 år og har lige fået et barn med sin kæreste, Louise. Desværre har Anders netop fået at vide at hans far, Henrik, har Huntingtons sygdom. Nu vil Anders gerne vide om han selv, hans to søskende, Nicoline og Caroline, og hans datter Emma har arvet sygdomsgenet.

DNA er i forvejen isoleret fra Anders, Henrik, Nicoline, Caroline og Emma, og det område af kromosom 4 der indeholder Huntingtin-genet (HTT) er opformeret vha. PCR. Nu skal DNA-prøverne analyseres vha. gel-elektroforese, og det skal ud fra resultaterne afgøres, hvem der har arvet HTT-genet, som giver sygdommen. Ud over de fem nævnte prøver er der en kontrol fra en rask person.

Materialer

- DNA-prøver – 6 stk.
- Gelelektroforesekar
- Gel med 6 brønde
- Buffer (opløsning af forskellige salte, der skal lede strømmen)
- Mikropipette med spidser
- Strømforsyning

Fremgangsmåde

- Tilsæt med pipette 10-20 μ L (afhængig af gelens tykkelse) af de forskellige prøver til hver sin brønd i gelen. Husk at bruge en ny pipettespids til hver prøve og pas på, at der ikke stikkes hul i gelen.
- Placer gelerne og hæld buffer over dem til de er dækket.
- Sæt låg på gelelektroforesekarret, indstil strømforsyningen på 90 volt og tryk start.
- Lad gelerne køre i 20-30 min. Afbryd strømforsyningen og tag gelen ud.

Efterbehandling

1. Analysér gelen og angiv genotyper for hver af de undersøgte personer.
2. Lav en konklusion hvor der tages stilling til om eksperimentets formål er opfyldt.



Lærervejledning til gentest med gelelektroforese

Materialer

- Geler er 1 % agarose (eller agar som er langt billigere og fungerer fint til prøver som simulerer DNA).
- Buffer er 0,1 g NaCl pr. 1 L demineraliseret vand.
- Prøver med simuleret DNA: Hertil er brugt farvestoffer opløst i vand med koncentration på 500 mg/L og tilsat 10 % glycerol. Mange typer farvestof kan bruges – test gerne dem der haves ved hånden på en gel. Det er vigtigt at farvestoffet som repræsenterer det muterede HTT-gen kører langsommere end farvestoffet som repræsenterer det normale HTT-gen. I dette eksempel er Eosin Yellow og Azorubin anvendt, enten blandet 1:1 eller alene. I tabellen er vist et forslag til sammensætning af prøver. Anders og Henrik og rask kontrol ligger fast, men sammensætningen for Nicoline, Caroline og Emma kan varieres – dog kan en person ikke være homozygot ift. muteret HTT (altså kun indeholde Eosin Yellow) – denne genotype er dødelig.

Person	Anders	Henrik	Nicoline	Caroline	Emma	Rask kontrol
Farvestof i prøve	Eosin yellow	Eosin yellow				
Farvestof i prøve	Azorubin	Azorubin	Azorubin	Azorubin	Azorubin	Azorubin

Fremgangsmåde

- Hvis der anvendes gelelektroforesekar med plads til 6 geler, kan gelerne tørloades og sættes i apparatet efterfølgende, hvis bufferen hældes forsigtigt op over gelerne til sidst. Det gør det nemmere for eleverne at arbejde med gelen ved deres egen station.